摄入异烟肼对家蚕幼虫体内谷胱甘肽氧化还原循环和谷胱甘肽 S-转移酶活性的影响

魏广兵[1]，王　璐[1]，殷为民[2]，何　月[1]，朱文娟[1]，周前凯[1]，赵林川[1]，徐世清[1]，司马杨虎[1,*]

（1. 苏州大学基础医学与生物科学学院，江苏苏州 215123；2. 苏州大学医学部，江苏苏州 215123）

摘要：为了建立家蚕 *Bombyx mori* 的药物筛选和毒性评价模型，以剂量为 2 000 mg/kg 的抗结核模药异烟肼饲喂家蚕 5 龄第 3 天幼虫后检测其中肠和脂肪体的抗氧化解毒相关代谢的变化。结果表明：雌蚕中肠组织中，总谷胱甘肽(GSH + 2GSSG)、还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)和氧化型谷胱甘肽(oxidized glutathione, GSSG)含量均呈现迅速上升再缓慢下降趋势；谷胱甘肽 S-转移酶(glutathione S-transferase, GST)活性升高到较大值后逐渐降低；GSH/GSSG 的比值下降表明，在 72 min 后中肠组织向氧化态转移。脂肪体组织中，总谷胱甘肽、GSH 和 GSSG 含量变化均呈现迅速下降再迅速上升的趋势；GST 活性达到最大值后逐渐降低后趋于平稳；GSH/GSSG 比值升高表明，在 72 min 后脂肪体组织向还原态转移。无论雌蚕还是雄蚕，总谷胱甘肽、GSH 和 GSSG 含量以及 GST 活性均是脂肪体高于中肠。雌蚕的总谷胱甘肽含量、GSH 和 GSSG 含量高于雄蚕，但雄蚕的 GST 活性高于雌性。结果说明，摄入异烟肼引起了家蚕幼虫体内谷胱甘肽氧化还原状态的改变和酶活性的变化，在这个过程中脂肪体起主要解毒代谢作用。

关键词：家蚕；异烟肼；谷胱甘肽氧化还原循环；谷胱甘肽 S-转移酶；脂肪体；中肠

中图分类号：Q966　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2013)08-0870-08

Effects of isoniazid intake on the glutathione redox cycle and glutathione S-transferase activity in larvae of the silkworm, *Bombyx mori*

WEI Guang-Bing[1], WANG Lu[1], YIN Wei-Min[2], HE Yue[1], ZHU Wen-Juan[1], ZHOU Qian-Kai[1], ZHAO Lin-Chuan[1], XU Shi-Qing[1], SIMA Yang-Hu[1,*] (1. School of Biology and Basic Medicine Sciences, Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215123, China; 2. Medical college of Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215123, China)

Abstract: In order to construct a model of drug screening and toxicity evaluation in the silkworm, *Bombyx mori*, the metabolisms related to antioxidation and detoxification in the midgut and fat body in the 3-day-old 5th instar larvae of the silkworm fed with isoniazid, an anti-tuberculosis model drug, at a dose of 2 000 mg/kg were investigated. The results indicated that in the midgut of female silkworms, the contents of total glutathione (GSH + 2GSSG), glutathione (GSH) and oxidized glutathione (GSSG) increased rapidly first and then decreased slowly. The glutathione S-transferase (GST) activity also increased to a higher level first and then dropped gradually to a steady level. The decline of the GSH/GSSG ratio in the midgut of female silkworms indicated the oxidative shift of redox status at 72 min after treatment. In the fat body of female silkworms, however, the contents of total glutathione, GSH and GSSG dropped rapidly first and then increased quickly, while the GST activity fell gradually and then increased to a peak. The increase of the GSH/GSSG ratio in the fat body revealed the reduced shift of redox status at 72 min after treatment. In both female and male silkworms the contents of total glutathione, GSH and GSSG, and the GST activity were higher in the fat body than in the midgut. The contents of total glutathione, GSH and GSSG were higher in females than in males, whereas the GST activity was higher in males than in females. The results suggest that the intake of isoniazid resulted in the change of the glutathione redox status and the related enzyme activities in larvae of the silkworm, and

基金项目：现代农业产业技术体系专项(CARS-22)；江苏省自然科学基金项目(BK2011298)

作者简介：魏广兵，男，1986 年 8 月生，安徽蒙城人，硕士研究生，主要从事动物毒理学研究，E-mail: guangbinggg17@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: simyh@suda.edu.cn

收稿日期 Received: 2013-03-10；接受日期 Accepted: 2013-07-18

fat body plays a major role in the process of detoxification.
Key words: *Bombyx mori*; isoniazid; glutathione redox cycle; glutathione S-transferase; fat body; midgut

家蚕是一种重要的经济昆虫，也是鳞翅目的模式昆虫。家蚕在基础物质代谢和遗传方式上与人类有很大的相似性，而且分化程度比果蝇高，体积较果蝇大，为生命科学的一些基础学科和应用学科提供了一个复杂性适度和可操作性强的研究模型(秦俭等, 2010)。建立具有中国特色的新型模式生物系统，是我国模式生物研究与发展的重要方向之一。英国和爱尔兰的科学家发现，哺乳动物与昆虫的主要细胞在感染病原体之后，产生类似的抗病反应，他们认为目前用小鼠 *Mus musculus* 进行的药物试验，80% 可用昆虫替代(Renwick and Kavanagh, 2007)。家蚕作为模式动物，已经在人类生理、疾病、遗传和开发新型药物的研究方面发挥作用(Iwami, 2000; Hamamoto *et al*., 2004; Asami *et al*., 2010)。利用家蚕建立起来的天然免疫活性化模式、细菌感染模式和肝病模式等在医学研究方面具有重要的意义(Kaito *et al*., 2002; Kaito and Sekimizu, 2007; Ishii *et al*., 2008)。

家蚕和人类一样，能够将外源药物分解并排出体外(Hamamoto *et al*., 2005)，但一般认为其作用机制不同。最近，日本东京大学染色体创药研究所 Sekimizu 研究室的大量研究表明，家蚕体内抗生素类药物的代谢动态和哺乳动物的结果相当一致，用家蚕研究药物的治疗效果能够预测对哺乳动物的治疗效果(Hamamoto *et al*., 2004)。家蚕可以采用体腔、肠管注射和经口添食等不同方式实验，后二者相当于人的口服。家蚕的肠管吸收性解剖学特征与人类相似，Hamamoto 等(2005, 2009)的实验表明，人的肠道吸收性低的、口服无效的抗菌素(万古霉素)对蚕也无效；对人类口服有效的氯霉素对蚕经口添食也有效。蚕也有和人大体一样的组织器官，相似的代谢酶，药物进入蚕体内后其动态和人近似；蚕的脂肪体具有相当于哺乳动物的肝脏的功能；蚕的肠管、脂肪体可以摘出供体外药物试验。许多药物毒性的单位动物体中致死剂量(median lethal dose, LD_{50})在蚕和哺乳动物具有相当一致性(Hamamoto *et al*., 2009)。用蚕幼虫模式作化合物毒性评价方法在日本已经申报专利(特愿 2007-214006)。通过研究昆虫对某一药物的解毒分子机理，阐明昆虫脂肪体与解毒的关系，可为进一步深入研究昆虫的代谢解毒机制提供一定的理论依据。进一步与该药物在小鼠等哺乳动物模式上的研究结果进行对比，可为建立家蚕的药物筛选及毒性检测的模式提供参考依据。

异烟肼(isoniazid, INH)，又名雷米封(Rimifen)，为临床抗结核药，是抗结核杆菌作用最强的首选药，但毒性较大，不良反应严重、多样。虽然 INH 毒性较强，但因尚无有效可取代的药物，因此在世界卫生组织推荐的标准抗结核化疗方案中，仍是不可替代的一线抗结核药(付翔等, 2006)。目前，对异烟肼的研究较多集中于小鼠等哺乳动物。由于动物伦理的限制和节省研究经费的需要，目前国际上逐渐提倡使用低等动物替代高等实验动物进行损伤性，药物筛选，毒性评价等试验。以家蚕作为替代实验动物有许多优于其他生物的特点：自然变异多、生活周期较短、个体大小适中、雌雄鉴别和繁殖容易；便于器官和组织摘取及其体外培养，操作简单易行，实验费用低廉，可供观测指标多等(朱晓苏等, 2009)。谷胱甘肽包括还原型(reduced glutathione, GSH)和氧化型(oxidized glutathione, GSSG)，其比值 GSH/GSSG 是细胞氧化还原态的动态指标。此外，谷胱甘肽转移酶(glutathione S-transferase, GST)是重要解毒酶(Forman *et al*., 2009)。本实验尝试从谷胱甘肽代谢的角度，以家蚕为实验动物研究异烟肼毒性与氧化损伤的相互关系，以期为相关研究积累资料。

1　材料和方法

1.1　试虫

家蚕品种大造，由苏州大学医学部应用生物学系提供。蚕卵用 25℃, RH 75%~85%, 24 h 连续光照条件催青。孵化前 2 d，蚕卵用 1% 甲醛和乙醇消毒。幼虫饲养方法为：1~3 龄, 27℃, RH 80%~85%; 4~5 龄, 25℃, RH 75%~80%; 1 龄每 3 日 1 次补给新鲜桑叶，2~4 龄每 2 日 1 次补给新鲜桑叶，5 龄每日 1 次补给桑叶。

1.2　药剂配制

实验用药剂异烟肼(Isoniazid) Sigma 公司(America)产品，纯度 99.9%。根据该药剂易溶于

水的性质，用超纯水(ultra pure water, UP)溶解，按照剂量要求(2 000 mg/kg)及经口给药体积(50 μL/g)配置浓度为 40 g/L 的待试药剂。

1.3 试虫处理和组织取样

预备实验结果表明，563 ~7 500 mg/kg 的梯度剂量经口给药(模拟临床拟给药方式)后的 5 龄第 3 天幼虫，在给药后 5 ~6 h 开始出现死亡，其 12 h 的半数致死剂量为：雌蚕 3 449.3 mg/kg、雄蚕 3 897.9 mg/kg。本实验选取亚半数致死剂量 2 000 mg/kg 作为给药剂量。实验选取大小接近 1.8 ~2.2 g 的 5 龄起蚕，雌雄鉴别后分开饲养，食桑 72 h 后禁食处理 2 ~4 h，然后用微量进样器经口等体积给药，给药量根据蚕体重量决定(50 μL/g)，同时以等量超纯水处理作为对照(control, CK)。雌雄分组处理，每组各处理 40 头。给药后 6 h 后出现死亡现象，因此本实验分别在给药后 8，24，72 和 216 min 提取家蚕的中肠和脂肪体组织，迅速用液氮冻存，置于 -80℃保存。每次取样收集 3 头幼虫的混合样本，每一处理和对照均重复 3 次。

1.4 谷胱甘肽含量和谷胱甘肽 S-转移酶活性测定

利用循环法测组织中总谷胱甘肽含量，2-VP 法测 GSSG 含量。GST 催化 GSH 与 1-氯-2，4-二硝基苯(CDNB)结合，其结合产物的光吸收峰波长为 340 nm，通过测定 340 nm 波长处吸光度上升速率，即可计算出 GST 活性。谷胱甘肽含量和谷胱甘肽 S-转移酶活性测定选用苏州科铭生物技术有限公司生产的专用试剂盒。按照相关试剂盒说明书进行相关操作。

1.5 数据统计与分析

实验数据采用 ANOVA (One way)和 Student's Newman-Keuls post hoc tests (SPSS Inc., USA)软件比较各实验组与对照组数据的差异显著性，$P<0.05$为差异显著水平和 $P<0.01$ 为差异极显著水平。

2 结果与分析

2.1 摄入异烟肼对家蚕幼虫中肠谷胱甘肽含量及比值的影响

雌性家蚕喂食 INH 后，中肠组织的各时期总谷胱甘肽含量呈现先上升后下降的趋势，在 24 min 达到最大值，与对照相比约升高 27% (图 1：A)。在给药 72 -216 min 期间，处理组家蚕总谷胱甘肽含量均极显著低于对照组($P<0.01$)。处理组雄蚕比雌蚕的总谷胱甘肽含量高，雄蚕处理组总谷胱甘肽含量达到最大值(72 min)滞后于雌蚕(24 min)(图 1：A)。

处理组雌性家蚕中肠的各时期 GSH 含量和 GSSG 含量也呈现先上升后下降的趋势，整体变化趋势与总谷胱甘肽含量变化趋势相似(图 1：C, E)。雌性家蚕在 24 min 前各谷胱甘肽含量均是处理组高于对照组，24 min 后则是处理组低于对照组(图 1：B, D, F)；雄蚕与雌蚕的表现则相反(图 1：B, D, F)。

雌性家蚕处理组的中肠的 GSH/GSSG 比值相对于对照组在 72 min 前呈现升高的趋势，216 min 呈现降低(图 1：G)；雄性处理组的 GSH/GSSG 比值在 72 min 前则呈现降低趋势，216 min 呈现升高(图 1：H)。

2.2 摄入异烟肼对家蚕幼虫脂肪体的谷胱甘肽含量及比值的影响

雌性家蚕喂食异烟肼后，脂肪体组织各时期总谷胱甘肽含量呈现先下降后上升的趋势，在 24 min 达到最小值，与 0 min 相比降低约 56%；在 216 min 处理组的总谷胱甘肽含量比同时期对照组高 28% (图 2：A)。在给药 24 -72 min 期间，雌性处理组家蚕总谷胱甘肽含量极显著低于对照组($P<0.01$)，其中，处理组 24 min 总谷胱甘肽含量为同时期对照组的 62%，72 min 时为 52%。雄蚕处理组的总谷胱甘肽含量在 24 min 前变化不明显，24 min 后逐渐降低，72 min 达到最小值，216 min 又开始逐渐上升(图 2：B)。雌雄处理组变化趋势基本与对照组一致，雌蚕处理组总谷胱甘肽含量明显高于雄蚕处理组且减少时间较早于雄性。

喂食异烟肼后，处理组雌蚕各时期脂肪体的 GSH 和 GSSG 含量呈现先下降后上升的趋势(图 2：C, E)，变化趋势与总谷胱甘肽相似；雌蚕处理组 GSH 和 GSSG 含量高于雄蚕。雌雄家蚕各组指标变化趋势与总谷胱甘肽含量相似(图 2：B, C)。

喂食异烟肼后的处理组雌蚕在 72 min 前各时期脂肪体的 GSH/GSSG 比值较对照组呈现下降的趋势，216 min 比值上升(图 2：D)，雄性则在 8 min 高于对照，24 -216 min 呈现下降趋势。

2.3 摄入异烟肼对家蚕幼虫不同组织 GST 活性的影响

5 龄第 3 天雌性家蚕喂食 INH 后中肠的各时期 GST 活性在调查期呈现上升下降又上升的 S 型趋势；GST 活性在 8 min 达到较大值，相对 0 min 升高

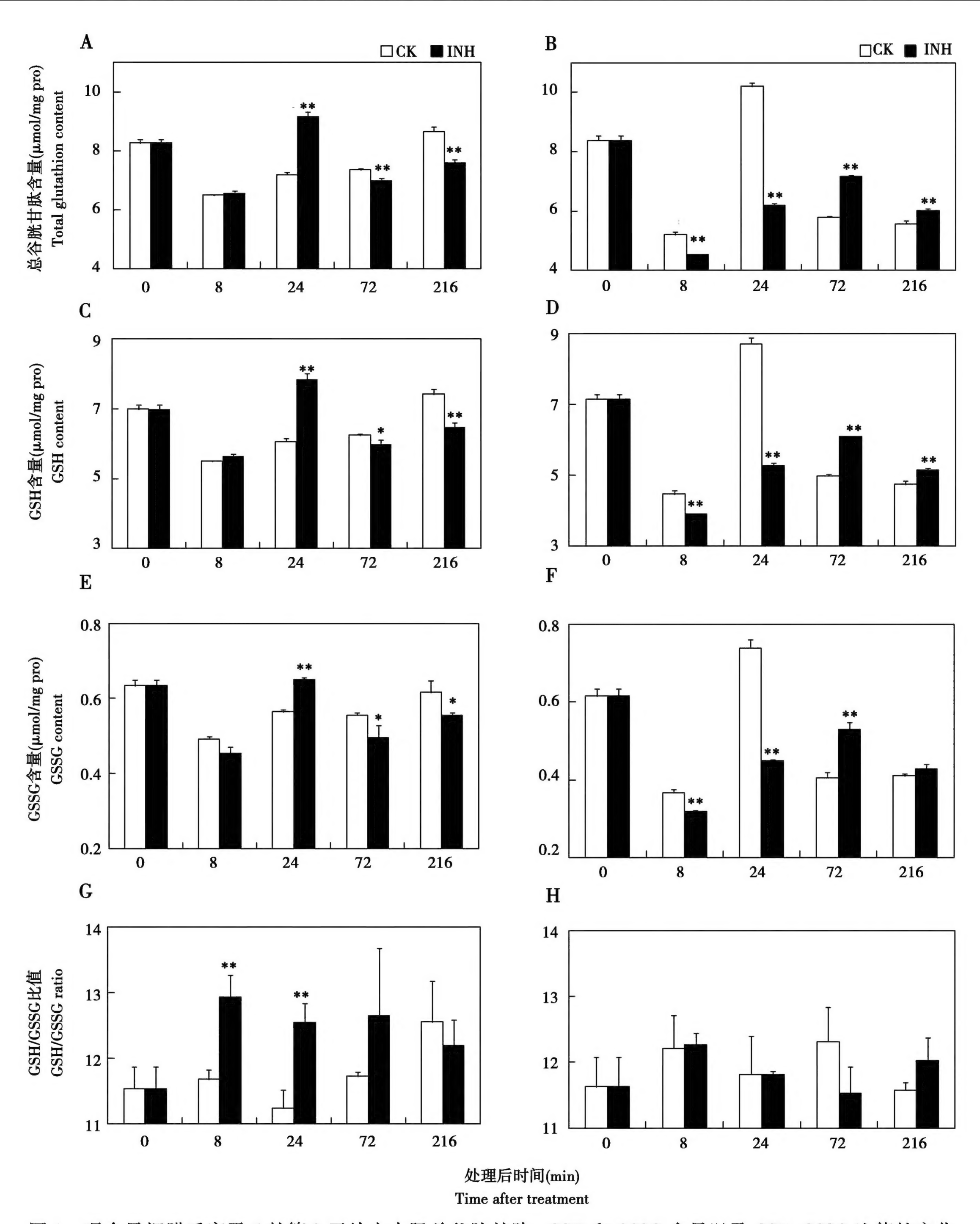


图 1　喂食异烟肼后家蚕 5 龄第 3 天幼虫中肠总谷胱甘肽、GSH 和 GSSG 含量以及 GSH/GSSG 比值的变化

Fig. 1　Change of the contents of total glutathione, GSH and GSSG, and the GSH/GSSG ratio in the midgut of the 3-day-old 5th instar larvae of *Bombyx mori* fed with isoniazid

A, C, E, G: 雌性 Female; B, D, F, H: 雄性 Male. 柱上星号和双星号分别表示处理与对照间在 0.01 和 0.05 水平上差异显著（*t* 检验）；图 2 和 3 同。Asterisk and double asterisk above bars indicate significant difference between treatment and the control at the 0.05 and 0.01 levels, respectively (Student's *t*-test). The same for Figs. 2 and 3.

了 47.1%，相对同时期对照升高了 19.6%。在 8 和 216 min 处理组的酶活性差异极显著高于对照组，而在 24 和 72 min 处理组的酶活性分别差异显著和极显著低于对照组（图 3：A）。处理组雄蚕的 GST 活性较雌性高，在 24 min 达到较大值，达到的时间迟于雌蚕，但变化趋势与雌蚕相似（图 3：B）。

雌性家蚕处理组脂肪体的各时期 GST 活性较对照组整体呈现降低趋势（图3：C）。处理组和对

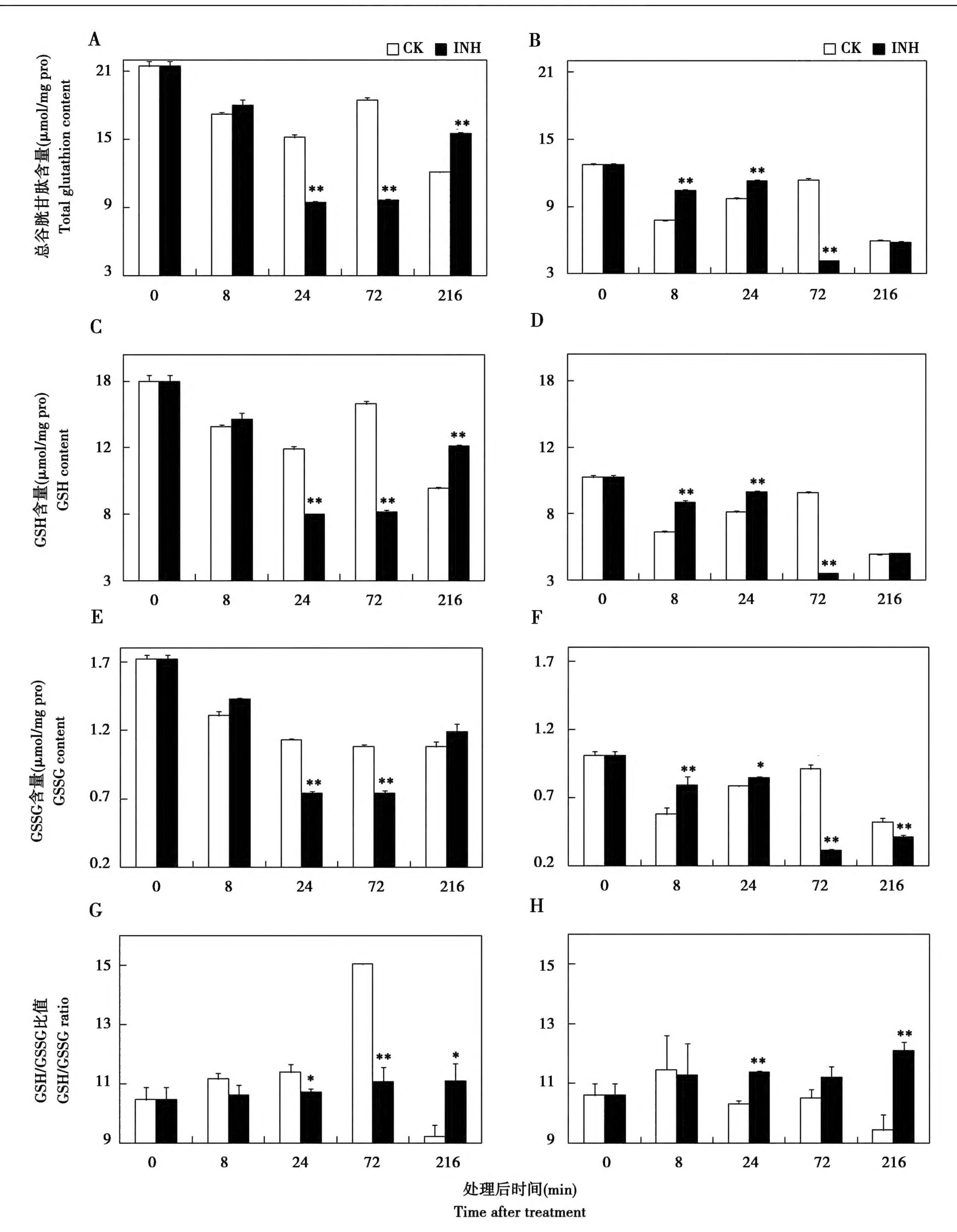


图 2 喂食异烟肼后家蚕 5 龄第 3 天幼虫脂肪体总谷胱甘肽、GSH 和 GSSG 含量以及 GSH/GSSG 比值的变化

Fig. 2 Change of the contents of total glutathione, GSH and GSSG, and the GSH/GSSG ratio in the fat body of the 3-day-old 5th instar larvae of *Bombyx mori* fed with isoniazid

照组 GST 活性均呈现试验期的 8 min 后下降，24 min 后上升，72 min 达到较大值再下降的趋势。处理组雌蚕在 24，72 和 216 min 与对照组的酶活性极其显著低于对照组。处理组雄蚕 GST 活性在整个试验期高于雌蚕，而变化趋势与雌蚕相似，处理组雄蚕在 24 min 酶活性极其显著高于对照组，其余 3 个调查时间点则表现为处理组雄蚕的酶活性显著或不显著低于对照(图 3：D)。GST 活性在脂肪体中高于中肠组织中(图 3：A，B，C，D)。

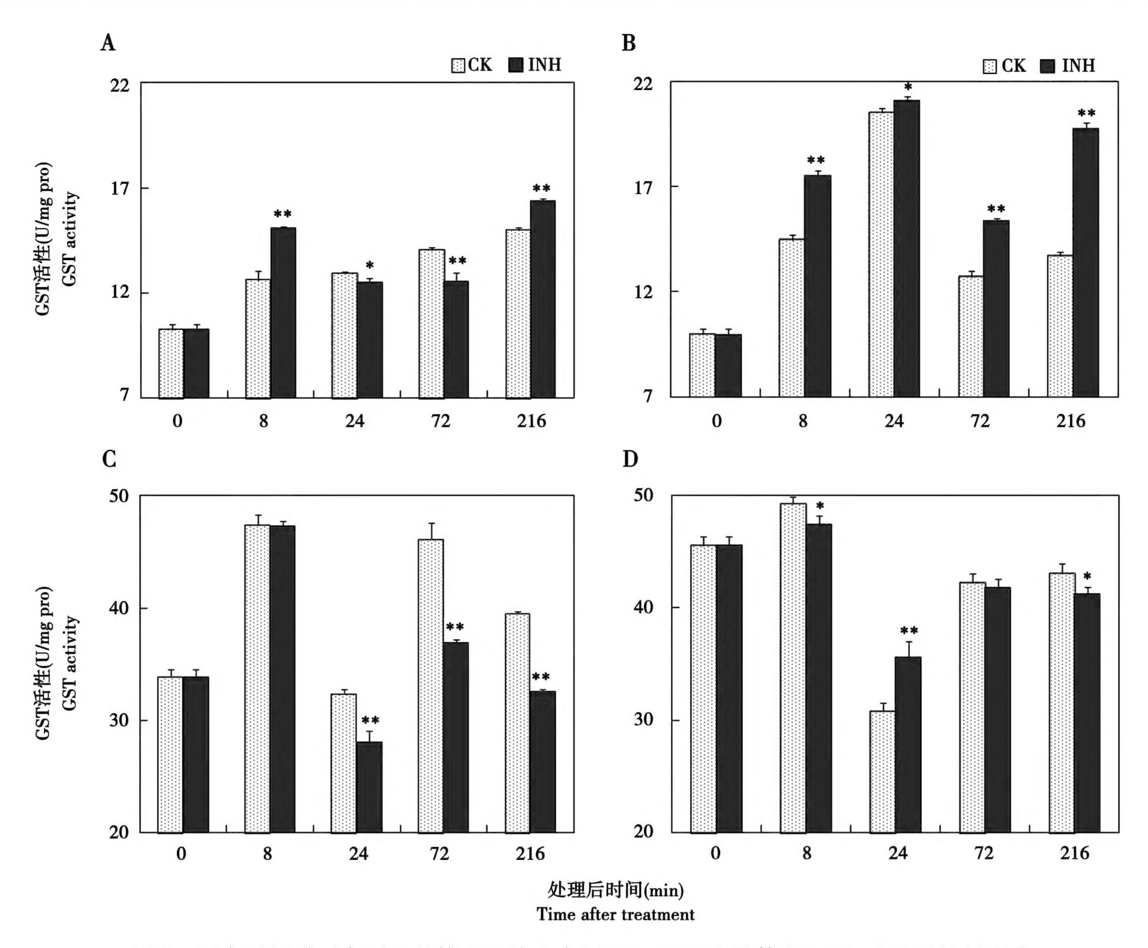


图 3　喂食异烟肼对家蚕 5 龄第 3 天幼虫中肠（A，B）和脂肪体（C，D）GST 活性的变化

Fig. 3　Change of the GST activity in the midgut（A，B）and fat body（C，D）of the 3-day-old 5th instar larvae of *Bombyx mori* fed with isoniazid

3　讨论

谷胱甘肽是一类小分子抗氧化天然活性肽，具有重要的生理功能。GSH/GSSG 是细胞内最重要的氧化还原对之一，测定细胞内 GSH 和 GSSG 含量以及 GSH/GSSG 比值，能够反映细胞所处的氧化还原状态，高比值说明细胞处于还原状态，低比值说明细胞处于过氧化状态（Lu，2009；Krishnan *et al*.，2009）。组织细胞内大多数谷胱甘肽处于还原状态，谷胱甘肽氧化还原循环对维持细胞内正常的氧化还原状态起着重要作用（Forman *et al*.，2009；Lu，2009）。

本研究分别调查了 5 龄第 3 天家蚕喂食异烟肼后不同时间点中肠和脂肪体的总谷胱甘肽、GSH 和 GSSG 含量及 GSH/GSSG 比值的变化。处理组雌蚕中肠组织总谷胱甘肽、GSH 和 GSSG 含量均高于雄性；雌蚕 72 min 前的 GSH/GSSG 比值明显升高，而雄性的则呈现降低，表明雌蚕喂食 INH 后 72 min 前的氧化胁迫响应较迟，细胞仍处于还原状态，216 min 组织细胞对 INH 响应，呈现过氧化状态（图 1：G）；雄蚕在初期（72 min 前）呈现氧化胁迫状态，试验后期（72 min 后）GSH/GSSG 比值明显升高，恢复还原状态（图 1：H）。表明喂食 INH 后，雌蚕中肠组织总谷胱甘肽及 GSH 含量明显高于雄性，先于雄蚕达到最大值，在试验前期组织细胞仍处于还原状态，后期转变为过氧化状态；雄性家蚕则在前期组织细胞出现氧化胁迫，后期表现还原状态。雄性家蚕中肠组织细胞先于雌性家蚕产生氧化胁迫保护细胞免受伤害。

雌蚕处理组的脂肪体组织总谷胱甘肽、GSH 和 GSSG 含量均高于雄蚕处理组；雌蚕在 72 min 前的 GSH/GSSG 比值明显降低，而雄性的则在 24 min 前降低。表明雌蚕喂食 INH 后在前期（72 min 前）氧化胁迫加强，216 min 后组织细胞响应，对 INH 适应并减轻毒害，恢复还原状态（图 2：G）；雄蚕在短

时间内处于过氧化状态，与之响应迅速有关，喂食 INH 24 min 后 GSH/GSSG 比值明显升高，转变为还原状态。在脂肪体组织中，雌蚕的氧化胁迫敏感性较强，但对 INH 适应性低于雄性(图 2：H)。中肠中各谷胱甘肽含量低于脂肪体中含量，雌蚕组织中各谷胱甘肽含量高于雄性家蚕。导致氧化还原状态的变化的其他原因尚待进一步研究。

谷胱甘肽 S-转移酶(GST)是机体代谢过程中具有多种生理功能的一类活性蛋白质，是众多物种体内都存在的氧化还原酶系。在昆虫体内,GST 参与了许多分子的解毒机制(Enayati *et al*., 2005),是昆虫体内的一类代谢解毒酶系(吴青君等, 2001),主要分布于脂肪体和消化道等(Kafel *et al*., 2003)。GST 在昆虫体内起保护组织以抵御氧化侵害，解毒作用主要表现在对过氧化物的还原及与外源活性亲电子基的轭合(周先碗, 1999; Ohnuma *et al*., 2011)。GST 可以催化细胞内大量存在并具有抗氧化及解毒的 GSH 氧化为 GSSG，从而导致 GSH/GSSG 比值发生变化，改变组织细胞的氧化还原状态，在保护组织细胞免受自由基和亲电子化合物的损伤中发挥着重要的生物学功能(Forman *et al*., 2009)。

家蚕的 GST 活性，在脂肪体组织中高于中肠，雄蚕高于雌蚕。雌蚕中肠内 GST 活性在 8 min 迅速升高，后降低至最小值又逐渐升高，后期始终低于对照，对应中肠内 GSH 含量后期逐渐增加，GST 酶活性升高，使中肠细胞转变为过氧化状态(图 3：A)。GST 活性较高使雄蚕处于过氧化状态，GST 活性的增加使中肠恢复还原状态(图 3：B)。雌蚕脂肪体中，在 24 ~ 72 min 内 GST 活性降低，GST 酶活性被抑制(图 3：C)；在 216 min，GSH 含量是升高的，但 GST 活性降低，说明了雌蚕在摄入 INH 后脂肪体中抗氧化系统出现不协调。雄蚕在处理后期 GST 活性升高，此时 GSH 含量降低，表明雄蚕中 GST 活性一直维持较高，催化 GSH 参与解毒过程(图 3：D)。

目前，已经有了家蚕抗逆性及体内保护酶活性在雌雄个体间的差异比较研究。本研究中，家蚕 5 龄第 3 天幼虫在喂食异烟肼后，中肠、脂肪体中 GST 活性在雌雄间的差异具有一致性，即雄蚕的 GST 平均活性高于雌蚕。GST 活性在脂肪体中最大(图 3：C，D)，说明 GST 主要存在和作用于脂肪体，昆虫脂肪体有类似于哺乳动物肝脏的类似功能。据此推测，脂肪体在 GST 介导的外源化学物抗性中可能起到重要作用，且雄性较雌性解毒作用更强。推测昆虫雌雄脂肪体对外源化学物的代谢解毒机制是存在差异的，具体机制尚待进一步研究与探讨。

参考文献 (References)

Asami Y, Horie R, Hamamoto H, Sekimizu K, 2010. Use of silkworms for identification of drug candidates having appropriate pharmacokinetics from plant sources. *BMC Pharm*., 10: 1 – 7.

Editorial Committee of the Pharmacopoeia of P. R. China, 2005. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. Ⅱ. China Medical Science Press. 217. [中华人民共和国药典编委会, 2005. 中华人民共和国药典. 第二部. 中国医药科技出版社. 217]

Enayati AA, Ranson H, Hemingway J, 2005. Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect Mol. Biol*., 14(1): 3 – 8.

Forman HJ, Zhang HQ, Rinna A, 2009. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Mol. Aspects Med*., 30(1 – 2): 1 – 12.

Fu X, Deng LD, Jiang XH, Deng H, Lu LC, Jia YT, Li SH, 2006. Effects of rifampicin on the pharmacokinetics of isoniazid in dogs. *Herald of Medicine*, 25(2): 109 – 111. [付翔, 邓立东, 蒋学华, 邓航, 卢来春, 贾运涛, 李素华, 2006. 利福平对异烟肼在犬体内药动学的影响. 医药导报, 25(2): 109 – 111]

Hamamoto H, Kamura K, Razanajatovo IM, Murakami K, Santa T, Sekimizu K, 2005. Effects of molecular mass and hydrophobicity on transport rates through non-specific pathways of the silkworm larva midgut. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 26(1): 38 – 42.

Hamamoto H, Kurokawa K, Kaito C, Kamura K, Razanajatovo IM, Kusuhara H, Santa T, Sekimizu K, 2004. Quantitative evaluation of the therapeutic effects of antibiotics using silkworms infected with human pathogenic microorganisms. *Antimicrob. Agents Chemother*., 48(3): 774 – 779.

Hamamoto H, Tonoike A, Narushima K, Horie R, Sekimizu K, 2009. Silkworm as a model animal to evaluate drug candidate toxicity and metabolism. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 149(3): 334 – 339.

Ishii K, Hamamoto H, Kamimura M, Sekimizu K, 2008. Activation of the silkworm cytokine by bacterial and fungal cell wall components via a reactive oxygen species-triggered mechanism. *J. Biol. Chem*., 283: 2185 – 2191.

Iwami M, 2000. Bombyxin: an insect brain peptide that belongs to the insulin family. *Zool. Sci*., 17(8): 1035 – 1044.

Kafel A, Bednarska K, Augustyniak M, Witas I, Szulinska, 2003. Activity of glutathione S-transferase in *Spodoptera exigua* larvae exposed to cadmium and zinc in two subsequent generations. *Environ. Int*., 28(8): 683 – 686

Kaito C, Akimitsu N, Watanabe H, Sekimizu K, 2002. Silkworm larvae as an animal model of bacterial infection pathogenic to humans. *Microb. Pathog*., 32(4): 183 – 190.

Kaito C, Sekimizu K, 2007. A silkworm model of pathogenic bacterial

infection. *Drug Discov. Ther.*, 1(2): 89 -93.

Krishnan N, Kodrík D, Kludkiewicz B, Sehnal F, 2009. Glutathione-ascorbic acid redox cycle and thioredoxin reductase activity in the digestive tract of *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 39(3): 180 -188.

Lu SC, 2009. Regulation of glutathione synthesis. *Mol. Aspects Med.*, 30(1 -2): 42 -59.

Ohnuma T, Anan E, Hoashi R, Takeda Y, Nishiyama T, Ogura K, Hiratsuka A, 2011. Dietary diacetylene falcarindiol induces phase 2 drug-metabolizing enzymes and blocks carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice through suppression of lipid peroxidation. *Biol. Pharm. Bull.*, 34(3): 371 -378.

Qin J, He NJ, Xiang ZH, 2010. Advances in silkworm modeling research. *Science of Serivulture*, 36(4): 645 -649. [秦俭, 何宁佳, 向仲怀, 2010. 家蚕模式化研究进展. 蚕业科学, 36(4): 645 -649]

Renwick J, Kavanagh K, 2007. Insects as models for studying the virulence of fungal pathogens of humans. In: Kavanagh K ed. New Insights in Medical Mycology. 45 -67.

Wu QJ, Zhang WJ, Zhang YJ, Xu BY, Zhu GR, 2001. The role of detoxification in abamectin-resistant *Plutella xylostella* (L.). *Chinese Journal of Pesticide Science*, 3(3): 23 -28. [吴青君, 张文吉, 张友军, 徐宝云, 朱国仁, 2001. 解毒酶系在小菜蛾对阿维菌素抗性中的作用. 农药学学报, 3(3): 23 -28]

Zhou XW, 1999. A new method of separating glutathione S-transferses from insects. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 15(2): 269 -273. [周先碗, 1999. 昆虫谷胱甘肽S-转移酶分离纯化的新方法. 中国生物化学与分子生物学学报, 15(2): 269 -273]

Zhu XS, Song Y, Xu SQ, 2009. Silkworm as model organisms in the application of modern biology. *Laboratory Animal and Comparative Medicine*, 29(1): 61 -65. [朱晓苏, 宋艳, 徐世清, 2009. 家蚕作为模式生物在现代生物学中的应用. 实验动物与比较医学, 29(1): 61 -65]

（责任编辑：赵利辉）